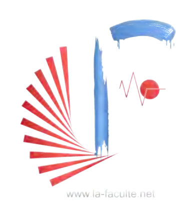
In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful







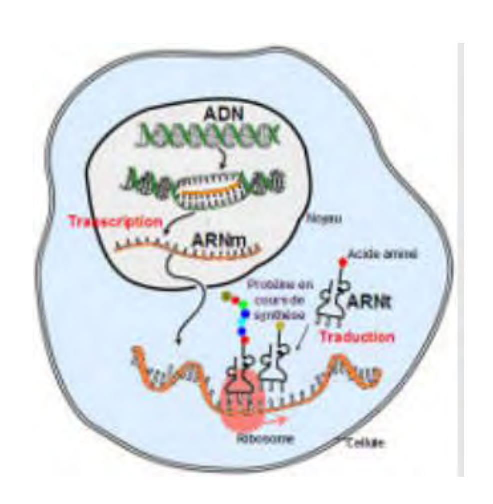




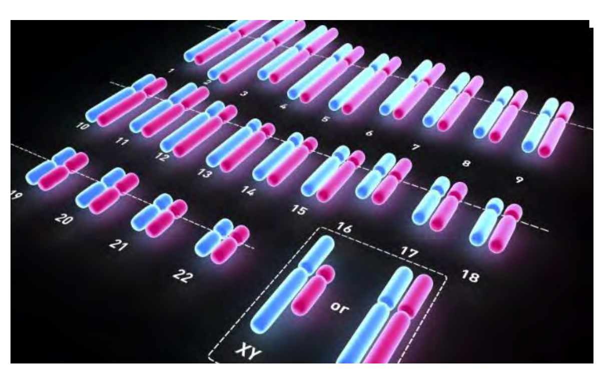


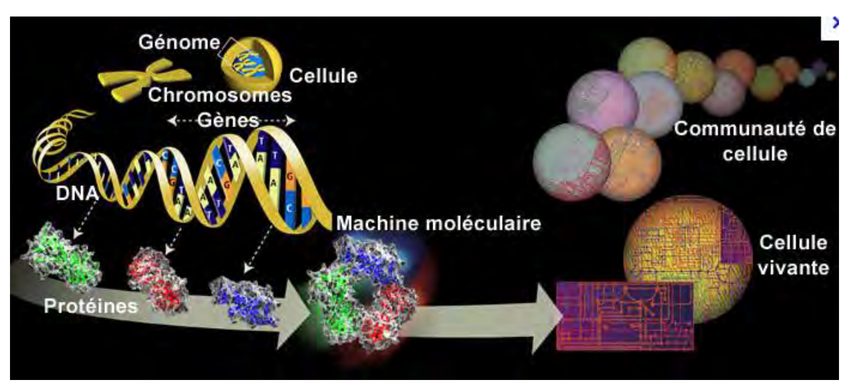
UNIVERSITE D'ALGER

Faculté de Médecine et de Médecine Dentaire ZIANIA (Château Neuf)



Réponse aux questions





Modules génétique-2014-2015



- **Nucléotides :**
  - sucre+base+phosphates(1 à 3)
- **Nucléosides** :
  - sucre+base
- **L'ADN a une polarité**
  - et on parle de sens 5'—3' et 3'—5'.
- **Propriétés de l'ADN**

  -Complémentarité (rapports Chargaff) **revoir exo fait**

  -Antiparallélisme(polarité)

  -Dénaturation phénomène réversible

  -Tm dépend de la richesse de G et C

  - Absorption des UV à 260 nm est due aux bases d'ADN

- **Forme molécule d'ADN**;

  -spirale

  -la forme A rarement observée, (hélice droite)

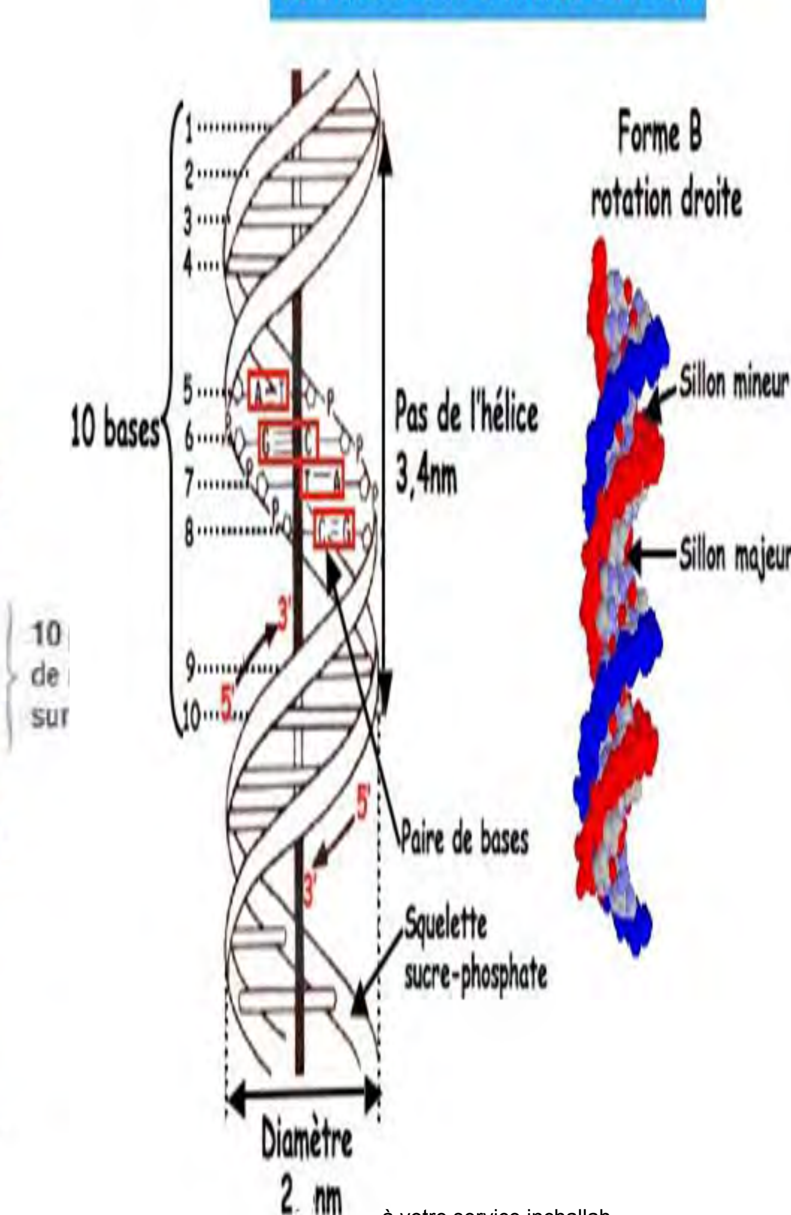
  -la forme B la plus courante (hélice droite)

  -la forme Z observée quelque fois, (hélice en zigzag).

Forme de l’ADN

- La double hélice effectue un tour toutes les 10 paires de bases;
- la distance entre bases sur l’axe est 3,4 A° ou 0.34 nm;
- un tour fait 34 A° ou 3.4nm,
- le diamètre de l’hélice est de 20A°(2nm).

(1A=0.1nm).



grand sillon

petit sillon

2 nanomètres

L'ADN Z

- L'**ADN Z** est une forme d'ADN caractérisée par une double hélice gauche, contrairement à l'ADN B, naturellement la plus courante, et à l'ADN A, observée notamment après déshydratation de la première.

- L'**ADN Z** est plus contraint que les formes A et B de l'ADN et s'observe préférentiellement dans les régions riches en paires guanine–cytosine lors de la transcription de l'ADN en ARN. Il s'agit d'une double hélice gauche, dont l'axe s'écarte significativement des paires de bases. Cette double hélice est plus étroite, avec un diamètre d'environ 1,8 nm et un pas d'environ 4,5 nm pour 12 paires de bases par tour d'hélice

:Hétéro-chromatine ou eu-chromatine ; donc est ce que c'est bande R et G ou .... ?

- les **bandes G** et **C** qui sont répliquées tardivement en phase S et correspondent à l'hétérochromatine, et

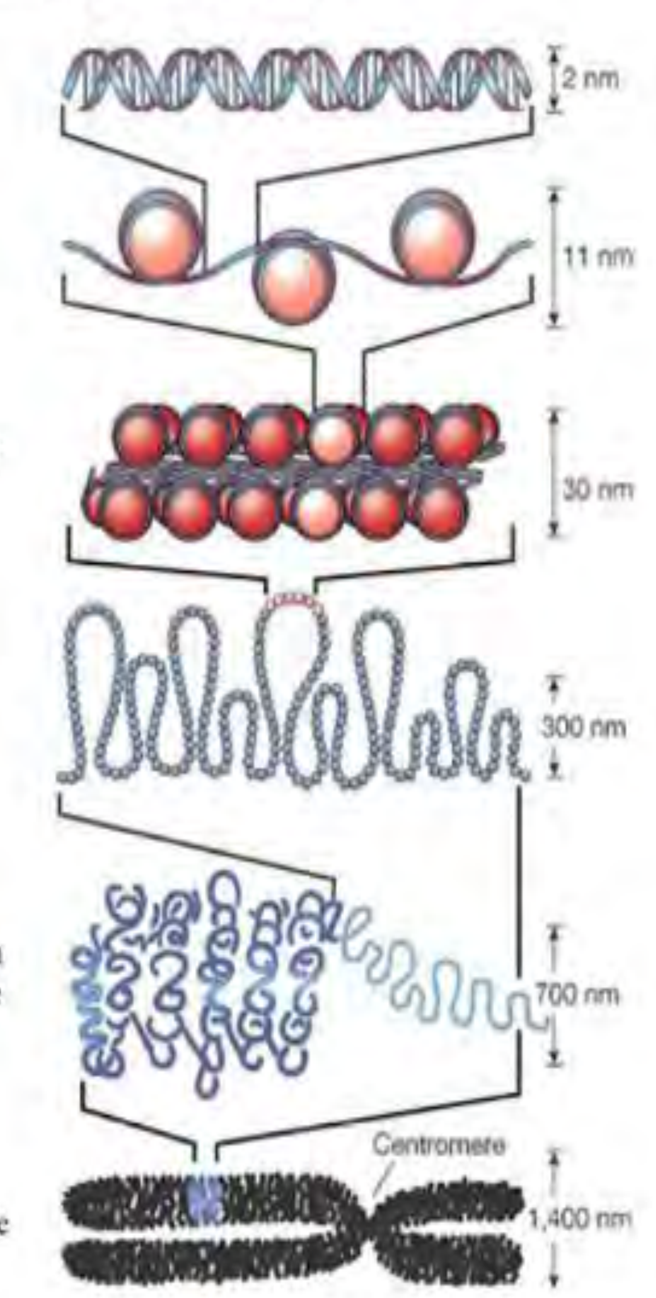
- les **bandes R** qui sont répliquées précocement en phase S et correspondent à l'eu-Chromatine.

Structure des chromosomes

6000 **million de bases d'ADN** soit une

- longueur d'environ **1,8 à 2m** (46 chromosomes) contenue dans un noyau de **6ɥm** de diamètre,
- Taille du chromosome est de **0,2 à 2ɥm**.
- Les chromosomes résultent de ce fait d'une **compaction maximum** des filaments inter phasiques.
- **L'ADN chromosomique** étalé est environ **8000 fois** plus Long que le chromosome lui-même.

Figure 3: Les différents niveaux de condensation de l'ADN.



(Modifié de (Felsenfeld and Groudine, 2003)

L'ADN chromosomique empaqueté dans le noyau à l'aide des **nucléosomes** qui sont des complexes [ADN-chargé négativement - protéines histone chargées positivement +].

Nucléosome:(8)**huit protéines histone** autour desquelles l'ADN s'enroule 1,66 fois(environ 146 - 147 paires de base). C'est l'**Eu-chromatine** (structure en collier de perles).

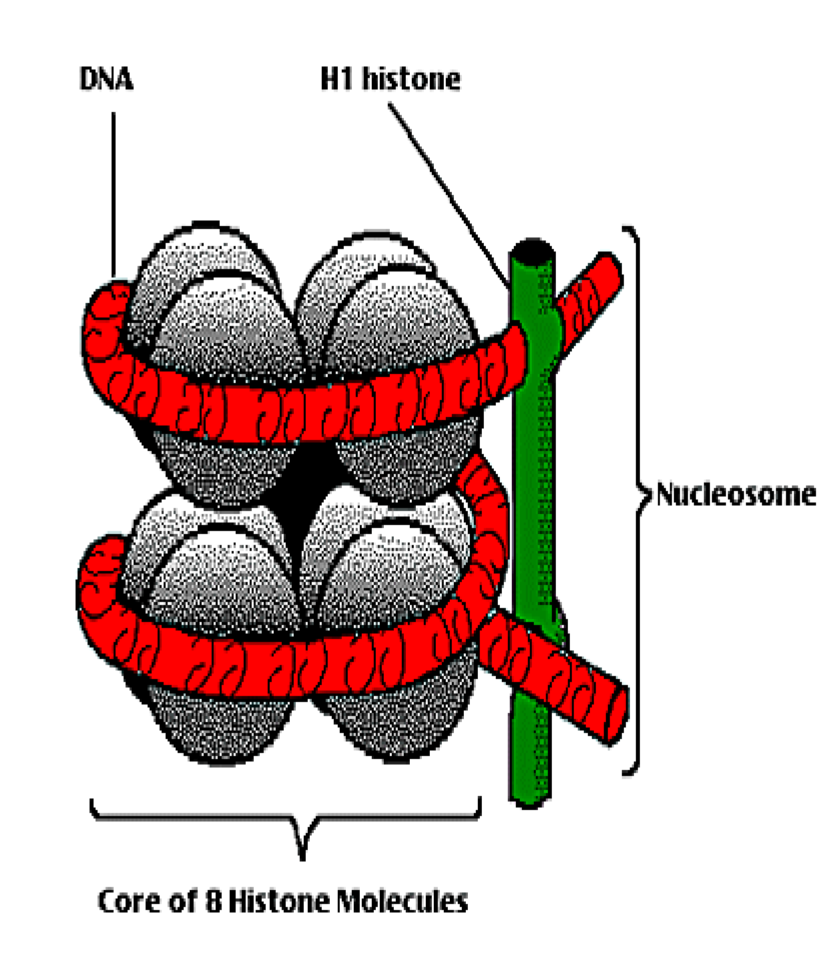
Nucléosomes se replient pour former une fibre d'**Hétéro-chromatine** de 30 nanomètres qui forme elle-même des **boucles de longueur** moyenne 300 nanomètres.

Les boucles sont à leur tour compressées et repliées pour former **une fibre de 250 nm d'épaisseur**.

Celle-ci est étroitement enroulée pour former les **chromatides d'un chromosome**.

Structure des chromosomes-compaction

- Un assemblage de 8 histones, 2 fois (H2a, H2b, H3, H4) autour du quel s'enroule une portion d'ADN de 146 pb, le tout forme le **Nucléosome** : unité structurale de base de la chromatine.
- Cet assemblage est répété indéfiniment et a l'aspect de chapelet de perle de **11nm** d'épaisseur.
- Grâce aux histones **H1** ce Chapelet de nucléosome se comprime en format une super hélice de **30nm de diamètre**.



Structure des chromosomes-compaction

- Cette super hélice de 30 nm de diamètre s'organise-t-elle même en boucles d'environ 300nm de longueur le long d'une armature constituée en grande partie par **la topo isomérase II** (non histone, enzyme capable de couper les deux brins d'ADN)
- Rôle: Enzyme a un rôle architectural et intervient dans le **relâchement des super tours** de la **chromatine lors de réplication**. Les boucles sont attachées à l'armature au niveau de régions particulières de l'ADN appelées SAR(Scaffoid attachement région) riche en adénine et thymine
- Le complexe « boucle + armature » s'enroule en une spirale plus au moins serrée selon le stade du cycle cellulaire.
- **L'**interphase **:** la spirale est relâchés, les chromosomes sont étirés et emmêlés ressemblant à une **pelote de laine**.
- **La division cellulaire :** la spirale **se condense encore plus** pour atteindre **700nm**, un degré maximum de compaction de chromosomes sont visibles.

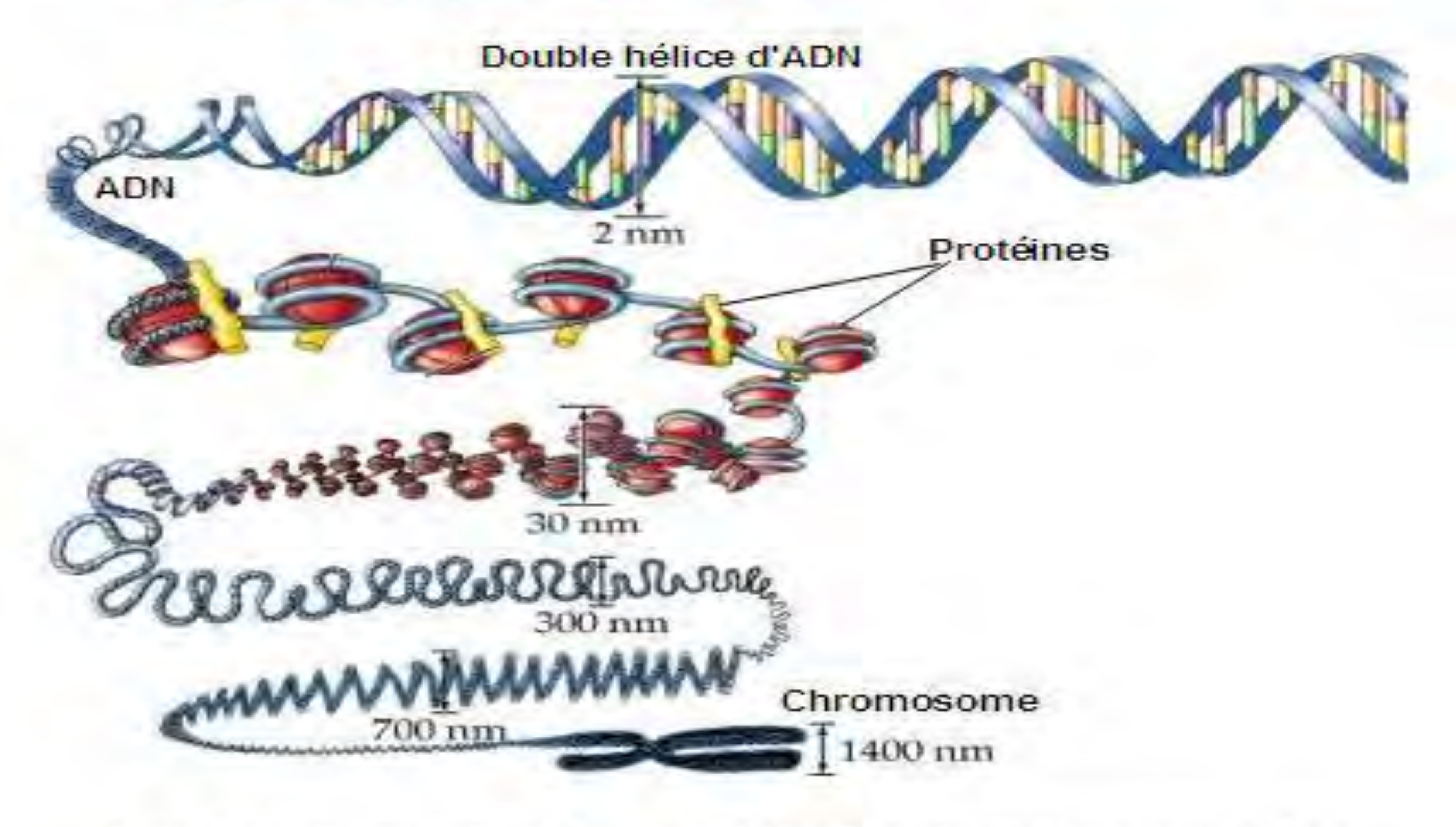
Topoisomérases

- Les ADN- topoisomérases de type I et II sont présentes dans toutes les cellules eucaryotes et procaryotes.

- Ces enzymes résolvent les problèmes topologiques (déformations spatiales) dans tous les aspects du métabolisme de l'ADN. Cette caractéristique leur donne un rôle indispensable à la vie cellulaire.

- La topoïsomérases de type II effectue une coupure temporaire dans la molécule d'ADN pour y faire passer les deux brins de la double hélice (contrairement à la topoïsomérases de type I qui n'en fait passer qu'un)

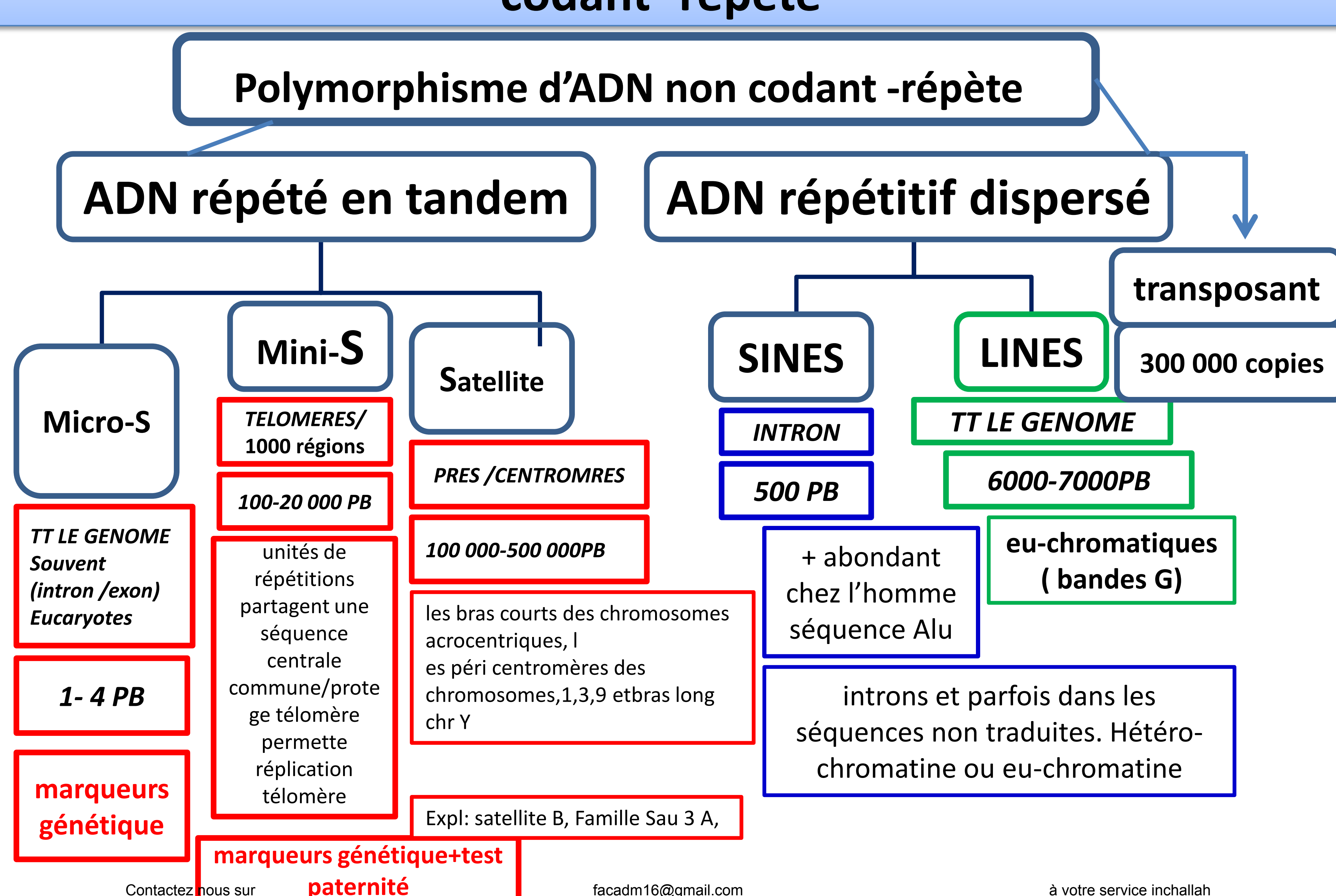
Du chromosome à l'ADN



Dans les noyaux des cellules, l'ADN est enroulé et associé à des protéines. Les "pelotes" ainsi formées sont les chromosomes. La découverte de l'ADN et de son rôle, en 1953, permet d'expliquer les mécanismes de l'hérédité.

Source : Sinauer

Vue d'ensemble des différentes catégories d'ADN non codant -répète



les télomères

- Remarque :
- 01/**Télomères** ont comme fonction **de fournir la stabilité au chromosomes** en rendant leurs extrémités inertes vis-à- vis de l'interaction avec d'autres chromosomes.
- Les télomères sont composés **de 2 types de séquences** :
- Séquences d'ADN télo-mériques : composé de courtes répétitions en tandem qui contribue à la stabilité et à l'intégrité des chromosomes. Chez l'homme la séquence GGGATT est répétée de nombreuses fois.
- Séquences associées aux télo-mères est aussi constitué de séquences répétées. Ces séquences sont retrouvées à proximité et à l'intérieur des télomères. Ces séquences sont variables selon l'organisme et leur signification demeure inconnue.

- Structure du gène Eucaryote , du gène Procaryote;

Structure du gène eucaryote

Le gène eucaryote est composé de la succession de séquences :

Codantes : **Exons** (début et fin d'un gène) et Non codantes : **Introns**

- Le **premier et dernier Exon** renferment une **séquence non traduite** mais **transcrite dans l'ARN**, ce sont les **séquences UTR** (untranslated region) qui **porte des séquences signal**

- **l' UTR 5 '** du **premier Exon porte la séquence signal de la « CAP »;**
- **l' UTR 3 ' du dernier Exon** referme le signal queue « **polyadénylation** ».

- La partie codante **premier Exon** commence par le génon **ATG** sur **le brin sens** (informatif – codant)
- et la partie codante du **dernier Exon** se termine par l'un des 3 gênons **TAA, TAG, TGA**.
- Au **brin sens** s'oppose **le brin anti-sens** ou **brin matrice** qui sert de modèle pour **la polymérisation de l'ARNm.**

Le Code génétique

5’ ATG GAC GTA TTA CAC TAA **3’**: brin sens: BNM

3’ TAC CTG CAT AAT GTG ATT **5’** : brin anti sens: BM

5’AUG GAC GUA UUA CAC **UAA3’** : ARNm

I_Cadre de lecture_I

5’ATG3’ = GENON

5’AUG3’ = CODON

Structure du gène eucaryote: séquences régulatrices d'un gène

a) **Le promoteur :** il détermine le début et l'orientation de la transcription, c'est le site de fixation de l'ARN polymérases.

b) **Le Silencer :inhibiteur,** situé entre le promoteur et le gène de structure, il permet de ralentir ou arrêter la transcription. séquences fixant des protéines qui inhibent l'expression des gènes en agissant à distance(region cis-régulatrice).

b) **L' Enhancer :** c'est un activateur de la transcription (trans-activateur), il agit à distance et peut se trouver en amont ou en aval du gène de structure.

fixent des protéines qui vont permettre l'amplification de l'expression des gènes de 10 à 100 fois.

exemple les récepteurs des hormones thyroïdiennes et les récepteurs des hormones stéroïdes (glucocorticoïde, progestérone, œstrogène).

Structure du gène eucaryote: séquences régulatrices d'un gène

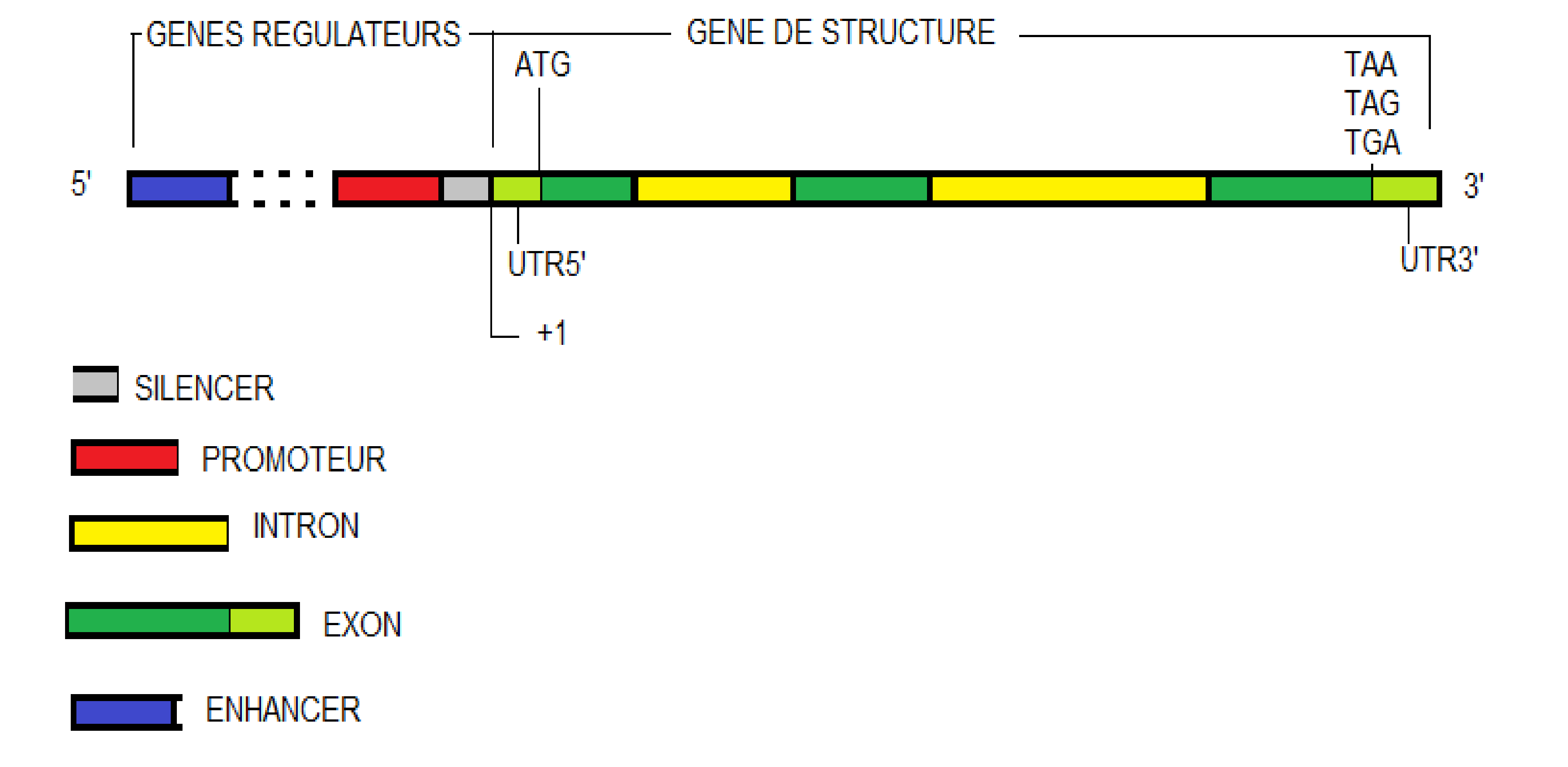
Remarque : des régions situées en amont du site d'initiation sont importants pour la transcription qui sont :

- **La boite TATA .**elle est située à environ – 30 paires de bases de l'origine de transcription ; dite séquence consensus (statistiquement la plus rencontrée). Cette boite fixe un facteur de transcription qui est absolument nécessaire pour l'initiation.

- **La boite CCAAT :** souvent située à environ – 70 paires de bases du site d'initiation.

Les de boites TATA et CCAAT représentent des sites de reconnaissance entre l'ARN Poly et le Promoteur pour l'initiation de la transcription.

STRUCTURE D'UN GENE EUCARYOTE



Structure du gène Procaryote

Définition :

Le chromosome bactérien se trouve dans le cytoplasme (Absence d'enveloppe nucléaire).

- Le gène ne contient **pas des introns** (pas de notion intron et exon), il s'agit des séquences **d'ADN codantes** appelées **cistrons.**
- **Pas de maturation** de L'ARNm.
- Les gènes sont transcrits ensembles en un seul **ARNm polycistroniques.**
- Les gènes sont **contigus** sous le contrôle de **mêmes régulat**eurs.
- Opéron inductible : **L'Opéron Lactose** chez E . Coli

Structure du gène Procaryote

II) Répression catabolique :

c'est un mécanisme supplémentaire de régulation de métabolisme permettant à l'opéron lactose de tenir compte de la présence du glucose et de le dégrader en premier, en présence de glucose avec le lactose.

- La transcription de l'opéron est favorisée par la fixation du complexe CAP-AMPc en amont du promoteur, cela augmente l'affinité du promoteur en vers l'ARN polymérase.
- CAP : protéine d'activation de catabolisme
- AMPc : dérivé de l'ATP
- AMP-----adénylate- cyclase----------------------→AMPc
- Présence du glucose inhibe la formation de l'AMPc donc la formation du complexe CAP- AMPc et la transcription de l'opéron.

- **la Transcription;**
- **le Code génétique ;**
- **et la Traduction.**

Codon INITIATION

Chez les **eucaryotes** Le codon d'initiation est la Méthionine , il sera éliminé contrairement

aux **Procaryotes** qui est le **Formyl-méthionine** , il n'est pas éliminé, il reste dans la structure de la protéine.

C'est une méthionine dont le groupe aminé est formyle. ***N*-Formyl-méthionine**, abrégée en **fMet**

Particularité chez les mitochondries

- Dans les mitochondries humaines, AUA, comme AUG, code la méthionine et non l'isoleucine.

- Dans les mitochondries humaines, **AGA et AGG** sont **des codons stop** et ne codent pas l'arginine.

- Dans les **mitochondries humaines**, de la levure de boulanger, de spiroplasmes et de Mycoplasma mollicutes, UGA n'est pas un codon stop mais code le tryptophane.

Mécanismes généraux

Le mécanisme général de la transcription qui est la synthèse d'un acide ribonucléique

- complémentaire d'un des deux brins du gène (=identique à celle de l'autre brin) est

divisé 3 étapes distinctes réalisées par une seule enzyme : ARN polymérase

- l'initiation de la transcription : reconnaissance du début de l'unité de transcription
- l'élongation de la chaine ribonucléotidique : polymérisation de la chaîne d'ARN
- la terminaison de la transcription : nécessite la reconnaissance de la région de terminaison.

La transcription

- Elle fait appel à plusieurs enzymes :
  - RNA-polymérase I qui synthétise les RNA cytoplasmiques : RNA ribosomiques (18 S- 5,8 S- 28 S)
  - RNA-polymérase II qui synthétise les RNA messagers qui contiennent l'information destinée à la traduction et certains des snRNA
  - RNA-polymérase III qui synthétise les petits RNA (tRNA, rRNA 5 S, snRNA, 7SL-RNA).
-

Les ARN polymérases

- Enzymes très variables et complexe
- 1 type « procaryote »
- 3 types « eucaryotes » spécialisés
  - ARN Pol I : transcription en ARN ribosomiques
  - ARN Pol II : transcription en ARN messagers
  - ARN Pol III : transcription en ARN tranfert

Qui travaillent globalement de la même façon.

- **Revoir la structure de L'ARNt**
- Structure ribosome

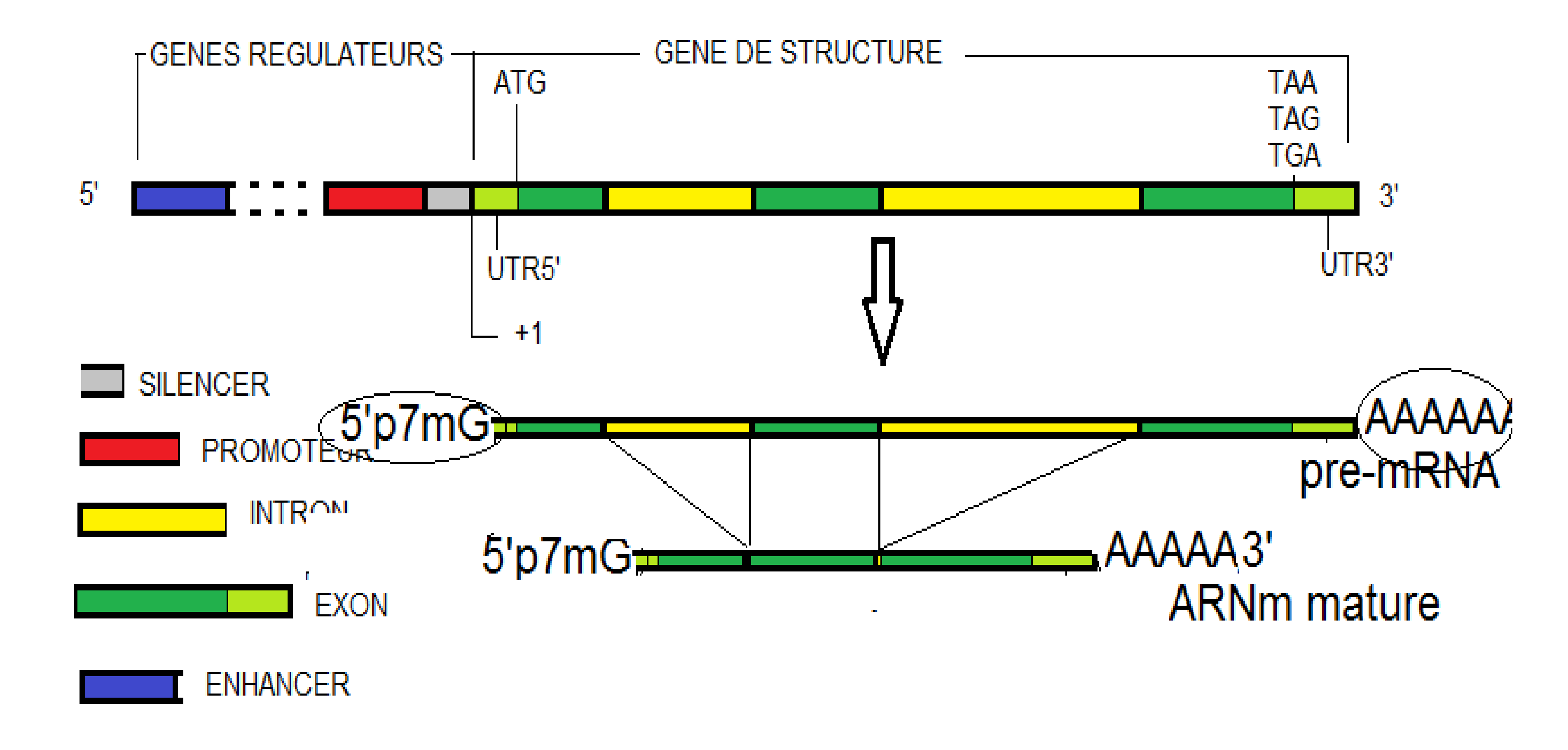
La transcription

- **Initiation**
  L'ARN polymérase se lie au promoteur du gène. Les deux brins d'ADN se déroulent à cet endroit (bris des liens hydrogène) et la transcription commence.

- **Élongation**
  - Dans le sens 5'-3'
  - De manière antiparallèle par rapport à l'ADN copié
  - De façon complémentaire

- **Terminaison**
  La transcription se poursuit jusqu'à la fin de la région terminale. Le transcrit d'ARN et la polymérase sont libérés

1-Addition de la coiffe-2-Addition de la queue poly A-3-épissage des exons



Modifications post- transcriptionelles de l'ARNm

1. **La coiffe en 5'** : capping : c'est l'ajout d'un 7 méthyle guanosine

   But :
   - Protection de l'extrémité 5' contre les exo-nucléases
   - Site de reconnaissance pour le ribosome (pour traduction en protéines)

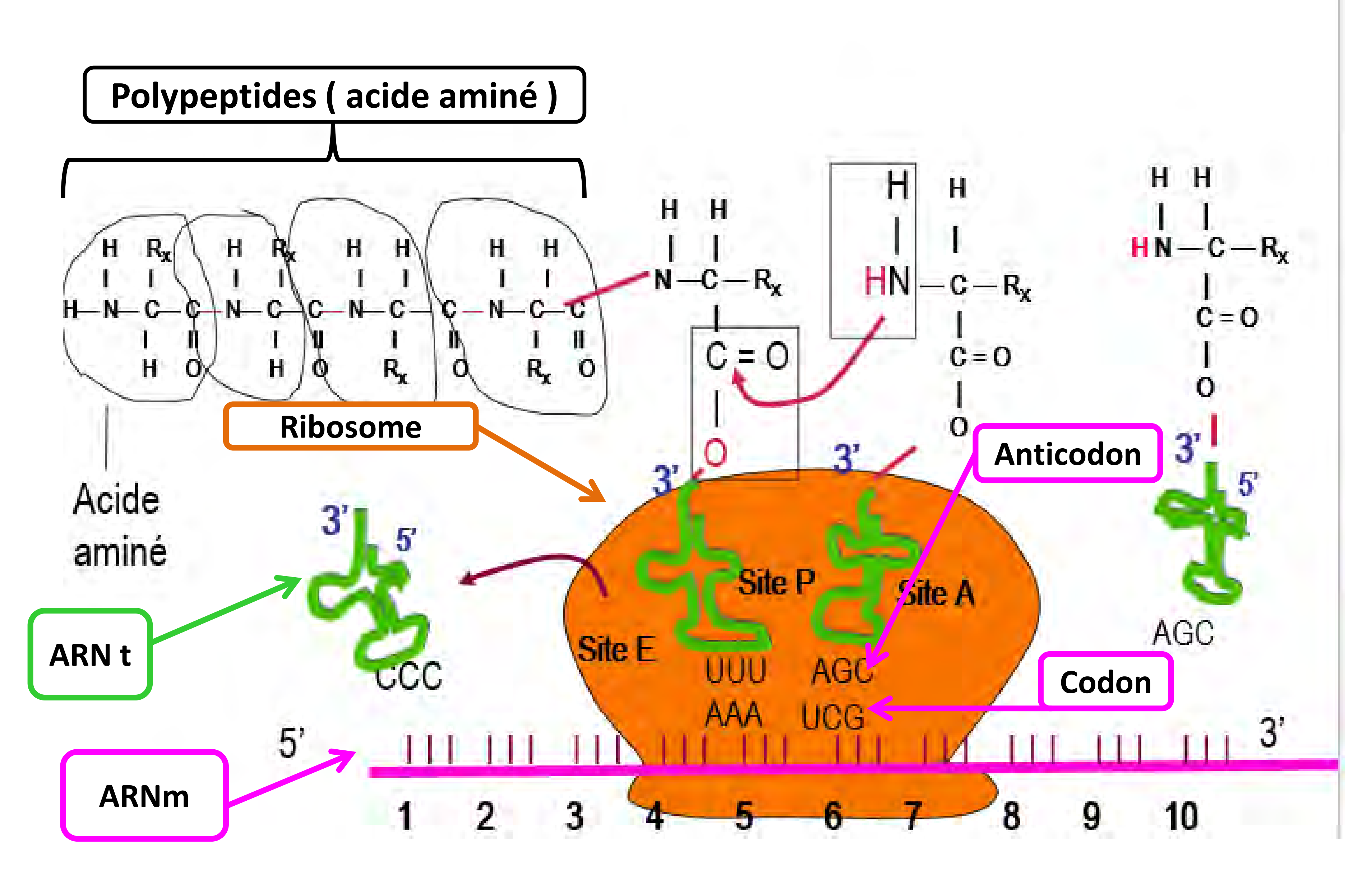
2. **Clivage et poly-adenylation de l'extrémité 3'** : à 10 -20 nucléotides de la fin du dernier exon une endo-nucléase reconnait le signal poly A, il ya clivage et un résidu de 200 adénines est ajouté à l'extrémité 3'.

   But :
   - Détermine la demi- vie de l'ARNm.
   - Stabilisation de l'ARNm.

3. **Elimination des introns et épissage des exons** :

   But :
   - Elimination et dégradation des introns.
   - Soudure des exons entre eux.

Image des étapes de la Traduction avec tout les éléments



- **Réplication de l'ADN**

Réplication de l’ADN

- un **mécanisme semi-conservatif.**

- la réplication s’effectuait de **manière bidirectionnelle** à partir d’une (procaryotes) ou de **plusieurs origines de réplication** (eucaryotes) ;

- **d’origines de réplications** dépend de la taille du génome à répliquer;

- La **réplication** est une **réaction rapide** :
  -1000 nucl./sec/fourche de réplication chez **les bactéries**
  -et 50 nucl./sec **chez les mammifères**.

Chaque origine de réplication est donc constituée de **deux fourches de réplication.**

La replication d ' ADN chez les procaryotes

- On distingue ainsi au niveau de **chaque fourche de réplication, un brin précoce** qui subit une synthèse continue **et un brin tardif** dont la synthèse s'effectue de manière discontinue dans un sens opposé à celui de la progression de la fourche de réplication.
- La synthèse se fait donc dans le **sens 5'-3**'du nouveau brin et **l'activité correctrice** dans le **sens 3'- 5'.**

- **I-1 Initiation de la réplication :** est **initiée** par des **protéines d'initiation (gyrase)** qui se **fixent** sur une **séquence** particulière riche **en AT** : **l'origine de réplication** pour **dérouler l'ADN** par un mécanisme de cassure et réunion.
- L' hélicase se lie ensuite à ce complexe et sépare les deux brins d'ADN en cassant les liaisons hydrogènes.
- Une fois la double hélice ouverte par l'hélicase, des protéines de liaison à l'ADN simple brin **(SSB)** maintiennent l'hélice déroulée à l'état simple brin, en empêchant l'appariement des bases complémentaires.
- La réplication commence au milieu de l'œil de réplication ,qui est divisé en deux fourches de réplications.
- Pour que la synthèse de la nouvelle chaîne puisse commencer, il faut une amorce (qui est une courte séquence d'ARN) qui se termine par un OH libre, car l'ADN polymérase III ne peut pas commencer une réplication "dans le vide" c'est-à-dire sans **extrémité OH sur le brin à allonger.**

- **1**-La réplication commence donc par l'action d'une ARN polymérase appelée Primase qui synthétise l'amorce. (Fig.6)
- **2**- l'ADN polymérase III prolonge l'amorce par de l'ADN grâce à son activité polymérasique 5'-3' Sur le brin matrice qui commence par 3' et se termine par 5' le brin nouvellement synthétisé est **un brin continu** ou précoce, orienté dans le sens 5'-3'.



Figure6 : différentes étapes de la réplication de l'ADN au niveau de l'œil de réplication

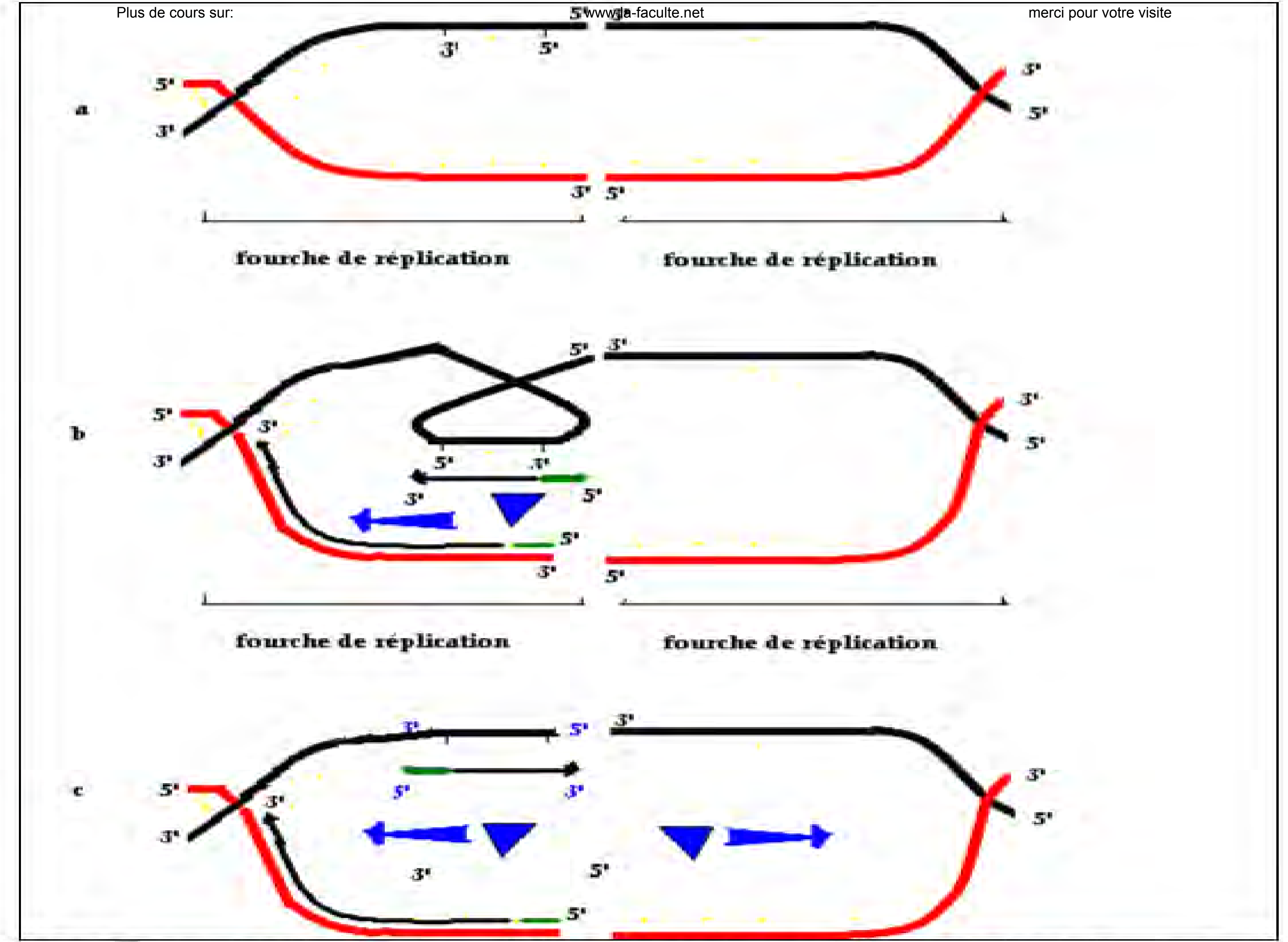


Figure 7 : Synthèse des fragments d'Okazaki au niveau de la boucle de réplication

Au niveau de chaque boucle est synthétisé un fragment d'ADN de 100 nucléotides appelé fragment d'Okazaki. Les fragments d'Okazaki forment le brin tardif ou discontinu (succession de courtes séquences d'ADN séparées par des amorces (ARN).

3- L'ADN polymérase I remplace les amorces par de l'ADN grâce à ses activités exonucléasique 5'-3' et polymérasique 5'-3'.

4- La ligase lie les fragments d'Okazaki grâce aux liaisons phospho-diester.

Réplication chez les eucaryotes

5 **ADN polymérases** chez les eucaryotes **:**

1. **Alpha** : elle a **une activité polymérasique 5’-3’** et une **activité Primase.**

Elle intervient en premier lors de la réplication pour synthétiser une **amorce(ARN)**

2. **Delta :** elle a une **activité polymérasique 5’-3** et une **activité exonucléasique 3’-5’**, elle a une forte **processivité** (nombre de nucléotides polymérisés par moment de fixation) Le complexe Delta/PCNA synthétise la majeure partie de l’ADN.

3. **Bêta** : **elle comble les vide**s causés après **l’élimination des amorces** par la RNAse H.

4.**Gamma** : elle intervient dans la **réplication de l’ADN mitochondrial.**

les mutations ponctuelles

I- les mutations ponctuelles

I-1- A : Effet sur l'ADN :

1. Délétion
2. Addition
3. Substitution -Transition -Transversion

I- 1-B : Effet sur la protéine

1- Mutation faux sens

2- Mutation non sens

3- Mutation Frame shift

4- Mutation silencieuse

5- Mutation conservatrice

II-Types de mutations

II-2) Mutations modulant l'expression du gène

II-3) Les mutations de grande ampleur ou macro lésions de l'ADN

II-4) Les mutations dynamiques instables

II-5) Les mutations de l'ADN mitochondrial

III Les mutagènes Chimiques et physiques

Plan du cours

I-Les Enzymes

- I-1 Enzymes de restriction
  - I.1.1 Les **exo-**nucléases
  - I.1.2 Les **endo-**nucleases
- I-2 ADN polymerases
  - I-2-1 Fragment de Klenow
  - I.2.2 Taq polymérase
- I-3 Les ligases

II Les vecteurs

- II-1 Vecteur de clonage
- II-2 Vecteur d'expression

III Les sondes moléculaires

IV Les Techniques

- IV-1 Technique d'**électrophorèse** sur gel d'agarose
- IV-2 Technique **PCR**
- IV-3 Technique de **séquençage**
- IV-4 Southern **blot**

V-Applications

- V-1 Diagnostic génétique
- V-2 Thérapie génique
- V-3 Synthèse de molécules thérapeutiques

III Les sondes moléculaires

- Séquence **d'ADN monocaténaire**, marquée, complémentaire du gène recherché, son rôle est la **détection de gènes,** notamment **en diagnostic génétique**.

- Le principe consiste à **détecter la présence d'une mutation** ponctuelle en réalisant l'hybridation moléculaire entre la séquence à tester et la sonde de l'allèle muté, L'utilisation d'une sonde spécifique de l'allèle normal et nécessaire pour réaliser un témoin négatif.

- Pour s'hybrider de façon spécifique à la séquence complémentaire, la sonde doit être courte. Les sondes sont marquées avec un élément radioactif (P32) ou chimioluminescent (digoxygénine) pour pouvoir les détecter après hybridation.

IV-2 Technique PCR :

Permet d'amplifier de courtes séquences d'ADN (quelques kilobases) in vitro, à partir d'une très petite quantité d'ADN même issue d'une seule cellule, par une série de cycles se déroulant en trois étapes : dénaturation, hybridation de l'amorce, réplication. Le nombre de molécule obtenu après n cycles et 2n. (Figure 8)

- Dénaturation : l'ADN à amplifier est dénaturé à la chaleur, les deux brins se séparent et servent de matrice.

- Hybridation des amorces : on baisse la température pour permettre à l'amorce de s'hybrider spécifiquement aux extrémités de la séquence cible à amplifier.

- Elongation ou polymérisation à 70 ° C : à cette température optimale de l'activité de l'enzyme Taq polymérase, l'amorce est allongée par complémentarité au brin matrice, ce qui produit deux nouvelles molécules d'ADN.

IV-2 Technique PCR :

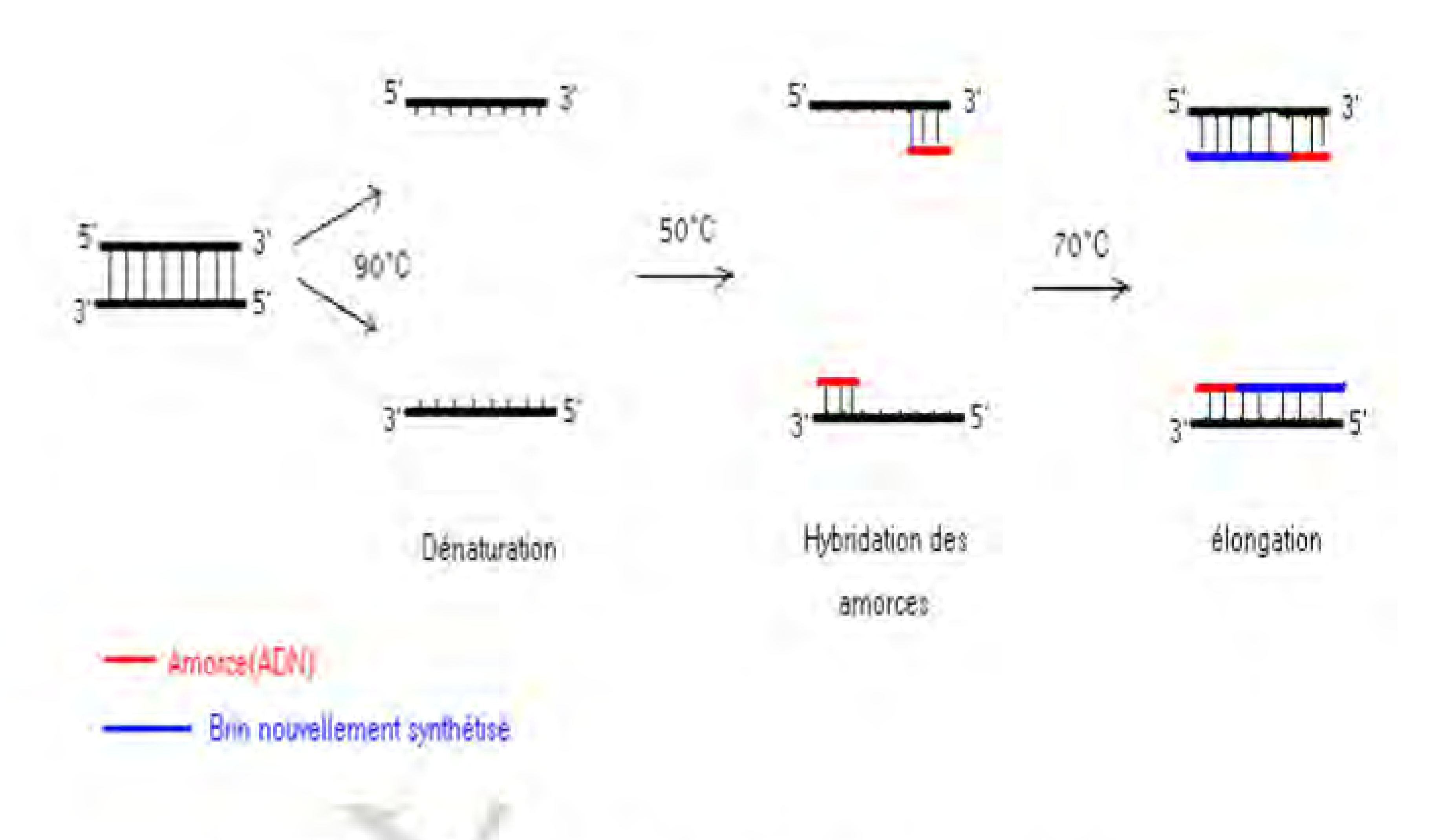


Figure 8 : représentation schématique des 3 étapes d'un cycle PCR

IV-3 Technique de séquençage-Sanger-

permet de déterminer la séquence d'ADN en réalisant une série de réplication

il faut

- 4 synthèses du brin complémentaire
- des amorces d'où les synthèses débutent
  - Les ADNs polymérase I : catalyse la synthèse
  - Des nucléosides triphosphate (+ Mg^{2+}) : dATP , dCTP , dGTP et dTTP
  - Des didésoyribonucléoside triphosphate marqué (radioactivité) : dd ATP, ddCTP ddGTP, et ddTTP; ne possèdent pas de groupement OH en 2' ni en 3', Ils bloquent donc la synthèse lorsqu'ils sont incorporés au brin.

Ainsi on utilisant différents didésoxynucléotides (ddA, ddT, ddG, ddC) on obtient plusieurs fragments se terminant chacun par l'un des didé-soxynucléotides.

Après séparation des brins néo synthétisés et leur migration sur gel d'électrophorèse, chaque fragment indique la position d'une base au niveau du brin néosynthétisé (brin lu) dont l'ordre est donné par sa position sur le gèle d'électrophorèse (Figure 9).

3'-TGCACTTGAACGCAT-5' } Single stranded DNA

5'-ACGT-3' } Labelled primer

+ DNA polymerase

+ excess of dATP, dTTP, dCTP, dGTP

+ ddATP

ACGTGAACTTGCGTA

ACGTGAA

ACGTGA

+ ddTTP

ACGTGAACTTGCGT

ACGTGAACTT

ACGTGAACT

+ ddCTP

ACGTGAACTTGC

ACGTGAAC

+ ddGTP

ACGTGAACTTGCG

ACGTGAACTTG

ACGTG

A T C G

3'

5'

Direction of electrophoresis

Read sequence

5'-GAACTTGCGTA-3'

3'-ATTGAACGCAT-5'

Complementary sequence

Bonne révision

&

Bon courage pour le reste

Désolé docteur, mais je dois encore vous contredire !